



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2011/2012

Rui Pedro de Sousa Pinheiro

Perspectiva genética nas
perturbações de ansiedade

março, 2012

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Rui Pedro de Sousa Pinheiro
Perspectiva genética nas
perturbações de ansiedade

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Psiquiatria

Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Dra Raquel Alexandra Silva Correia

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Arquivos de Medicina


março, 2012

FMUP

Eu, Rui Pedro de Sousa Pinheiro, abaixo assinado, nº mecanográfico 080801224, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 30/03/2012

Assinatura: 

Nome: Rui Pedro de Sousa Pinheiro

Endereço eletrónico: rpspinheiro@hotmail.com

Telefone ou Telemóvel: 917866683

Número do Bilhete de Identidade: 11432250

Título da Monografia:

Perspectiva genética nas perturbações de ansiedade

Orientador:

Dra Raquel Alexandra Silva Correia

Ano de conclusão: 2012

Designação da área do projeto:

Psiquiatria

É autorizada a reprodução integral desta Monografia para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 30/03/2012

Assinatura: Rui Pedro de Sousa Pinheiro

Perspectiva genética nas perturbações de ansiedade

Rui Pedro de Sousa Pinheiro

Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Resumo: 244 palavras.

Abstract: 232 palavras.

Texto: 4980 palavras.

Dados para correspondência:

Rui Pedro de Sousa Pinheiro

Rua Ló Ferreira, n.º 207 Matosinhos, 4450-177 Matosinhos.

Telefone: 229376306 / Telemóvel: 917866683

E-mail: mimed08224@med.up.pt / rpspinheiro@hotmail.com

Conflitos de interesse: nada a declarar.

Agradecimentos:

À Dra. Raquel Alexandra Silva Correia pela disponibilidade, compreensão que sempre demonstrou, e o papel crucial que desempenhou, como orientadora, para a elaboração desta monografia.

ÍNDICE

Resumo.....	4
Abstract.....	5
Introdução.....	6
Métodos.....	7
Hereditabilidade das perturbações de ansiedade.....	8
Estudos de <i>linkage</i> ou ligação e estudos de associação.....	9
Dos <i>genomewide associaton studies</i> aos endofenótipos.....	14
A importância dos modelos animais.....	19
Conclusão.....	23
Referências.....	25
Anexos.....	33

Título: Perspectiva genética nas perturbações de ansiedade

Resumo:

As perturbações de ansiedade são muito prevalentes em todo o mundo, estimando-se que afectem uma em cada quatro pessoas. Estão associadas a uma enorme carga de sofrimento, perda de qualidade de vida, e incapacidade, comparáveis a outras doenças crónicas como a diabetes mellitus. Existem tratamentos eficazes para uma grande parte dos doentes, no entanto existe uma necessidade crescente de, por um lado descobrir tratamentos ainda mais eficazes, e por outro desenvolver métodos de prevenção.

O estudo das bases genéticas destas perturbações tem despertado o interesse dos investigadores. Parece claro que, uma parte do risco de desenvolver um tipo de perturbação de ansiedade é atribuída a factores genéticos, estimando-se uma hereditabilidade entre 20% e 40%, valor semelhante ao da depressão major, mas inferior à esquizofrenia ou doença bipolar. Vários genes têm sido apontados como estando associados, no entanto tem sido difícil replicar os resultados obtidos.

Investigadores têm adoptado estratégias diferentes na programação e realização dos estudos. Por um lado, aumentar o alcance dos estudos realizados, quer a nível do número de genes investigados, quer a nível do tamanho da amostra estudada. Por outro lado, definir e pesquisar fenótipos intermédios que possam ser expressões mais próximas dos genes das perturbações de ansiedade, do que são as próprias perturbações. Estudos moleculares, de neuroimagem e em modelos animais, têm fornecido informações valiosas sobre o envolvimento genético nas perturbações de ansiedade abrindo perspectivas para o desenvolvimento de novos meios de diagnóstico, tratamento e prevenção para as perturbações de ansiedade.

Palavras chave: Ansiedade, genética, hereditabilidade, associação, endofenótipos, modelos animais.

Title: Genetic perspective over anxiety disorders

Abstract:

Anxiety disorders are highly prevalent worldwide, affecting an estimated one in four people. They are associated with an enormous burden of suffering, loss of quality of life, and disability, comparable to other chronic diseases such as diabetes mellitus. There are effective treatments for the majority of patients, nevertheless there is a growing need of, in one hand find out treatments even more effective, and on the other hand develop prevention methods.

The study of the genetic bases of these disorders has attracted the interest of researchers. It seems clear that part of the risk of developing one type anxiety disorder, is attributed to genetic factors, with an estimated heritability between 20% and 40%, similar to that of major depression, but less than schizophrenia or bipolar disorder. Several genes have been identified as being associated, nevertheless it has been difficult to replicate the results. Researchers have adopted different strategies in planning and performing studies. In one hand, increase the range of studies, both in terms of the number of genes investigated, both in terms of sample size. On the other hand, setting and investigating intermediate phenotypes that may be closer expressions of anxiety disorders genes, than are the disorders themselves. Molecular studies, neuroimaging and animal models have provided valuable information about the genetic involvement in anxiety disorders, opening new perspectives for the development of new diagnostic, treatment and prevention tools for anxiety disorders.

Keywords: Anxiety, genetics, heritability, association, endophenotypes, animal models.

Introdução

As perturbações de ansiedade são uma classe de perturbações psiquiátricas muito prevalentes em todo o mundo, estima-se que afectem uma em cada quatro pessoas durante a sua vida. Entre elas contam-se a perturbação de ansiedade generalizada, perturbações fóbicas, perturbação de pânico, perturbação obsessivo-compulsiva e perturbação de stress pós-traumático.

As perturbações de ansiedade estão associadas a uma enorme carga de sofrimento, perda de qualidade de vida e incapacidade, comparáveis a outras doenças crónicas como a diabetes mellitus. Os custos económicos associados são elevados, quer directamente pelos custos com o diagnóstico e o tratamento, quer indirectamente pelo grau de incapacidade que algumas das perturbações acarretam, com consequente repercussão em termos económicos e sociais.

Os tratamentos disponíveis são eficazes para uma grande parte dos doentes, no entanto existe uma necessidade crescente de, por um lado descobrir tratamentos mais eficazes, e por outro desenvolver métodos de prevenção.⁽¹⁾

Tudo isto contribui para que as perturbações de ansiedade sejam actualmente objecto de grande investigação entre as doenças psiquiátricas. Uma parte substancial dos estudos realizados nesta área centra-se na tentativa de melhor compreender a etiologia e a patofisiologia destas perturbações.

A história familiar é um dos factores de risco melhor estabelecido para as perturbações de ansiedade, pelo que nos últimos anos tem sido dado maior interesse ao estudo das bases genéticas deste tipo de doenças.

Métodos

Para a realização desta monografia, procedeu-se à recolha de artigos, usando a base de dados *Medline*, via *PubMed*, como fonte de pesquisa de artigos, tendo sido utilizados os seguintes termos: “anxiety disorders”, “genetic”, “GAD”, “OCD”, “PTSD”, “phobia”, “gene”.

Foram também seleccionados artigos a partir das referências dos artigos consultados.

Após exclusão de artigos por: título, resumo e outros após leitura integral de artigo, foram incluídos 72.

Hereditabilidade das perturbações de ansiedade

Vários estudos foram desenvolvidos ao longo dos anos no sentido de determinar se as perturbações de ansiedade são familiares e qual a sua hereditabilidade. Hoje é claro que, uma parte do risco de desenvolver este tipo de perturbação é atribuída a factores genéticos.(2,3,4)

Foi observado em vários estudos que o risco de desenvolver um tipo de perturbação de ansiedade entre os familiares de primeiro grau dos afectados é quatro a seis vezes maior que nos familiares de primeiro grau de indivíduos controlo não afectados. Os familiares de primeiro grau tendencialmente partilham o mesmo ambiente, estando expostos aos mesmos estímulos, o que constitui um factor de viés na apreciação do risco genético deste tipo de patologia. Os estudos de gémeos ajudam a separar o risco relacionado com factores genéticos do risco relacionado com factores ambientais. No caso da perturbação de stress pós-traumático, as conclusões são mais difíceis de obter devido à dificuldade de se conseguir paridade quanto à exposição ao trauma entre os membros da mesma família. Ainda assim, este tipo de estudos conseguiram demonstrar que a predisposição genética para o desenvolvimento desta perturbação poderá ser de 30%-35%.(1,4,5,6)

Ao comparar a similaridade entre gémeos homozigóticos e gémeos heterozigóticos para as perturbações de ansiedade, observaram-se taxas de concordância entre 12% e 26% para os gémeos homozigóticos, e entre 4% e 15% para os gémeos heterozigóticos. Assim é estimada a proporção do risco de doença que é devida a variação de genes numa população. Os estudos de gémeos permitiram inferir, de uma forma consistente, uma hereditabilidade das perturbações de ansiedade entre 20% e 40%, valor semelhante ao da depressão major, mas inferior a outras doenças psiquiátricas como esquizofrenia ou doença bipolar, entre outras. (2,4,7)

Apesar de se obter uma estimativa da proporção do risco que é hereditável, estes estudos são estatísticos por natureza, e como tal, permitem saber muito pouco acerca da patofisiologia deste tipo de perturbações. Assim, é preciso determinar de que forma os

genes contribuem para o risco do desenvolvimento das perturbações de ansiedade, quantos genes estão envolvidos, qual o efeito de cada gene e a proporção desse efeito.(8)

Estudos de *linkage* ou ligação e estudos de associação

Ao longo dos tempos, a genética da maior parte das perturbações psiquiátricas, e as perturbações de ansiedade não são excepção, mostrou não se processar de forma simples, nem obedecer a padrões de natureza mendeliana. Encontrar os genes para as perturbações de ansiedade tornou-se numa tarefa difícil devido ao facto de este tipo de perturbação ser de natureza complexa. Para algumas doenças, foram identificados genes únicos de grande importância com efeitos de grande dimensão, como é o caso do Síndrome X-frágil ou o Síndrome Lesch-Nyhan, em que a presença do gene de risco dita com grande probabilidade a existência de doença.(9,10) No entanto, para a maioria das doenças comuns, a arquitectura genética é complexa, envolvendo vários genes de pequeno efeito.(11,12) Estes genes podem ainda sofrer influência do meio ambiente ou interagirem entre si ou com outros genes, aumentando a complexidade do seu envolvimento.(13)

Nesse sentido, tem sido difícil identificar quais os genes envolvidos nas perturbações de ansiedade, e perceber de que forma interagem entre si e qual o papel dos factores não genéticos, como o meio ambiente. Por exemplo qual a influência de eventos como trauma no parto, situações de abuso ou negligência, tensão aumentada ou infecções.

Inicialmente, a investigação dos genes envolvidos nas perturbações de ansiedade, centravam-se em dois tipos de estudos: estudos de *linkage* ou de ligação e estudos de associação.

Os estudos de *linkage* baseiam-se no conceito de que dois *loci* situados muito próximos num determinado cromossoma tendem a ser herdados juntos (ligados). Desse modo, se um determinado marcador genético, cuja localização já é conhecida, for sempre herdado junto com a doença pelos membros afectados de uma mesma família, muito provavelmente o gene da doença estará localizado próximo desse marcador. Estes estudos foram originalmente desenhados para avaliar uma transmissão de um único gene de grande efeito e geralmente necessitam de famílias grandes e com múltiplos afectados, sendo esta a sua principal limitação.(14)

Os trabalhos desenvolvidos na área das perturbações de ansiedade recorrendo a estudos de ligação, têm apontado várias regiões cromossómicas, mas os resultados obtidos têm sido bastante inconclusivos. Estão descritas ligações para perturbações de pânico em regiões dos cromossomas 1p, 2q, 7p, 9p, 11q, 12q, 15q, 20p, 20q e 22q11.(15,16) Para as perturbações fóbicas estão descritas ligações com o cromossoma 3q para a agorafobia(17), e 16q para a fobia social.(18) Para a perturbação obsessivo-compulsiva foram encontradas possíveis ligações às regiões cromossómicas 3q27-28, 6q, 7p, 1q e 15q.(19)

Recentemente têm sido utilizados estudos de associação genética. Estes estudos são realizados para determinar se uma variante genética está associada a uma doença ou a uma característica. Se houver associação, um alelo particular, genótipo ou haplótipo de um polimorfismo ou polimorfismos, serão observados com mais frequência do que seria esperado por acaso nos indivíduos portadores de determinada doença. Uma pessoa portadora de uma ou duas cópias de uma variante de alto risco terá um risco acrescido de desenvolver a doença ou de ter a característica associada. Este tipo de estudos tem maior poder do que os estudos de ligação para detectar pequenos efeitos, mas requerem muitos marcadores para serem examinados e amostras de tamanho considerável.(20)

A maior parte dos estudos de associação levados a cabo para as perturbações de ansiedade, centram-se em genes candidatos, que se julga terem um papel no desenvolvimento destes distúrbios. A suspeição nestes genes é fundamentada em evidências biológicas anteriores, ou em genes apontados pelos estudos de ligação anteriores.

Alguns dos genes mais estudados, são os que codificam receptores, transportadores e enzimas envolvidos nos sistemas de transmissão neuronal.

Segundo a teoria de Cloninger, cada uma das dimensões da personalidade está relacionada com a acção de um sistema de neurotransmissão. A procura de novidade relacionada com a actividade da dopamina, a evicção do perigo e dano relacionada com a serotonina e a recompensa e dependência relacionada com norepinefrina. Entre as dimensões da personalidade, a evicção do perigo e dano é a que mais se assemelha aos traços de

ansiedade. A favor da implicação da serotonina nas perturbações de ansiedade está o facto de medicamentos como os inibidores selectivos de recaptção de serotonina (SSRI) serem eficazes no tratamento da ansiedade.(21,22) Nesse sentido, o sistema de transmissão serotoninérgico é um dos mais amplamente estudados.

Dois tipos de variações nestes *loci* foram testados na maioria dos estudos. Os primeiros são os *single nucleotide polymorphisms* ou SNPs, variações numa sequência de ADN em apenas um nucleótido, que constituem a forma mais comum de variação no genoma humano, ocorrendo com uma frequência de uma em cada mil bases de uma sequência de ADN. O segundo tipo de variações inclui a repetição de sequências curtas de dois a quatro nucleótidos que ocorrem em trechos de longitude variável, nos genes ou em torno deles, apelidadas de microssatélites.

A variante mais investigada em estudos genéticos das perturbações de ansiedade e do humor é o polimorfismo do promotor de alongamento do transportador de serotonina ou 5HTTLPR, uma repetição de um di-nucleotídeo que está presente nessa região. A vasta utilização de SSRI's no tratamento das perturbações de ansiedade faz do transportador de serotonina o alvo farmacológico mais utilizado. Uma diferença de 44 pares de bases da sequência de repetição de nucleótidos entre o alelo "curto" e o alelo "longo" do 5HTTLPR confere ao primeiro uma redução na actividade de transcrição do gene do transportador de serotonina.(23)

Este alelo tem sido associado com algumas características relacionadas com ansiedade como o neuroticismo e evicção de perigo, e perturbações de ansiedade, incluindo a fobia social, perturbação obsessivo-compulsiva, e perturbação de stress pós-traumático. Contudo, a validade destas associações tem sido difícil de estabelecer, existindo estudos em que os resultados obtidos são negativos.(24,25)

Vários outros genes têm sido apontados como estando associados com as perturbações de ansiedade, no entanto tem sido difícil replicar os resultados obtidos.

Tem sido abordado também o estudo da interacção de genes candidatos com o meio ambiente. Este tipo de investigação assume particular importância na compreensão da

patogénese da perturbação de stress pós-traumático, que implica uma exposição a um evento ou situação traumática. Um estudo sugere que polimorfismos no gene FKBP5, envolvido na transdução do sinal glicocorticóide regulando a sensibilidade dos seus receptores, poderão estar associados a perturbação de stress pós-traumático e à sua gravidade, ao serem responsáveis por alterações da sensibilidade dos receptores durante o período de desenvolvimento.(26)

Contudo, os estudos de associação têm-se mostrado ineficazes em atribuir um papel concreto aos genes investigados na etiopatogenia das perturbações de ansiedade. Para que se estabeleça uma associação válida entre fenótipo e genótipo é necessário que os resultados sejam replicados, o que não tem tido sucesso.

Dos *genomewide associaton studies* aos endofenótipos

As doenças psiquiátricas encerram em si uma enorme complexidade, o que levanta um enorme desafio para a compreensão do caminho percorrido desde a expressão dos genes até à manifestação da doença. Por um lado existe uma heterogeneidade genética, em que podemos encontrar diferentes genes que causam a mesma patologia. Por outro lado, há que ter em conta a ocorrência de fenómenos de epistase, em que uns genes interagem com a expressão de outros genes, modificando a sua expressão. E há ainda a considerar as interacções entre os genes de susceptibilidade e o meio ambiente. Isto faz com que sejam necessárias amostras de grandes dimensões para que os estudos de associação assumam validade e sejam replicados com sucesso.

As perturbações de ansiedade envolvem um conjunto complexo de fenótipos, por isso a sua classificação e os seus limites são pouco definidos e estanques, resultando daí grandes dificuldades no estabelecimento de categorias de diagnóstico precisas.

Estes obstáculos motivaram os investigadores a adoptar estratégias diferentes na programação e realização dos estudos. Por um lado aumentar consideravelmente o alcance dos estudos realizados, quer a nível do número de genes investigados, quer a nível do tamanho da amostra estudada. Por outro lado pesquisar fenótipos que possam ser expressões mais próximas dos genes das perturbações de ansiedade do que são as próprias perturbações, maximizando a dimensão do efeito detectável.(27)

Uma das estratégias tem sido possível graças aos avanços na tecnologia e ao conhecimento e sequenciação do genoma humano. Projectos em larga escala têm sido desenvolvidos, proporcionando ferramentas importantes para os estudos genéticos, como os *genomewide association studies* (GWAS), um tipo de estudo em que centenas de milhares de SNP's são estudados no sentido de se estabelecer associação com uma determinada doença em centenas ou milhares de pessoas, e que tem revolucionado a área de investigação da influência genética em doenças complexas.(28)

Desde 2005 os GWAS têm produzido provas significativas de que certas diferenças específicas entre indivíduos, em sequências comuns de ADN, influenciam a sua susceptibilidade para mais de 40 doenças comuns.(29) Muitas destas descobertas englobam genes candidatos que não eram suspeitos como estando envolvidos, e novas hipóteses fisiopatológicas. Milhões de sequências de ADN humano têm sido catalogadas e novas tecnologias têm sido desenvolvidas que permitem estudar mais de um milhão de variações de uma forma rápida e precisa, tornando este método viável. Estudos GWAS estabeleceram genes de risco para doenças comuns como diabetes, doenças auto-imunes e doenças cardiovasculares, sugerindo ainda que os alelos de risco mais comuns têm efeitos reduzidos ou modestos.(30)

Têm surgido alguns GWAS para as perturbações psiquiátricas, nomeadamente para a perturbação de hiperactividade e défice de atenção, autismo, perturbação bipolar, depressão maior e esquizofrenia.(31) Estudos GWAS recentes na área da esquizofrenia e do autismo puseram em evidência a possibilidade de que a expressão de fenótipos psiquiátricos complexos envolve uma combinação de variantes comuns de pequeno efeito e variantes mais raras de maior efeito, como por exemplo variações no número de cópias (CNV).(32,33) Poucos estudos GWAS têm sido aplicados às perturbações de ansiedade. Um estudo para a perturbação de pânico, realizado em japoneses, obteve resultados pouco conclusivos, não conseguindo mostrar associação entre os genes candidatos e a perturbação estudada.(34) As variações do tipo CNV começam a ser estudadas também nas perturbações de ansiedade. Uma variante rara, SCL6A13 foi encontrada apenas em indivíduos portadores de perturbações de ansiedade e não em indivíduos controlo. Embora não tenha sido constituída uma associação clara entre a variante estudada e a perturbação psiquiátrica, o facto de ter sido encontrada apenas entre os afectados poderá representar mais um passo para a compreensão da fisiopatologia das perturbações de ansiedade.(35)

Mais estudos GWAS envolvendo as perturbações de ansiedade e com recurso a maiores amostras serão necessários para estabelecer relações causais mais fortes entre as variantes genéticas e manifestação da doença. Por exemplo, para a identificar os genes que

influenciam a estatura de um indivíduo, um fenótipo altamente hereditário, são necessários estudos GWAS com dezenas de milhares de casos e controlos, e replicação em amostras independentes.(36)

A formação de redes de colaboração extensiva como é o caso da *ANxiety Genetics Study Team* ou ANGST, pode constituir também um recurso importante para identificar os genes das perturbações de ansiedade, na medida que possibilita a integração de uma maior quantidade de informação proveniente de vários centros de investigação no sentido de alcançar níveis de poder que os grupos de investigação individuais não conseguem. Conforme referido anteriormente, a outra estratégia para aumentar o poder dos estudos genéticos passa pela criação de fenótipos mais restritos, fenótipos intermédios ou endofenótipos. Tem-se tornado claro que a classificação de doenças psiquiátricas com base em fenótipos evidentes pode não ser ideal para a dissecção genética destas doenças, que têm subjacente uma grande complexidade. A criação de endofenótipos, referentes a um ou poucos traços de uma determinada perturbação, pode possibilitar que esses fenótipos sejam mais próximos da expressão dos genes que conferem susceptibilidade da perturbação estudada. O fundamento desta abordagem passa pelo facto de que, se os fenótipos associados a uma perturbação são muito especializados e representam fenómenos relativamente simples e elementares, o número de genes necessários para produzir variações nesses traços pode ser menor do que aqueles envolvidos na produção da doença psiquiátrica.

O que se pretende é descobrir se os genes de susceptibilidade que possam ter apenas um pequeno efeito na perturbação em estudo, tenham na realidade um efeito maior no desenvolvimento destes traços mais elementares, e desta forma estabelecer mais facilmente uma associação válida.(37)

Vários endofenótipos foram propostos para as perturbações de ansiedade. Traços de temperamento como neuroticismo, inibição comportamental, afectividade positiva, aumento da actividade da ínsula e amígdala visíveis através de imagiologia cerebral funcional, entre outros.(38)

Os métodos disponíveis para análise de endofenótipos avançaram consideravelmente incluindo métodos de medição de marcadores neurofisiológicos, bioquímicos, endócrinológicos, neuroanatômicas, cognitivos e neuropsicológicos.(39) As ferramentas de neuroimagem disponíveis actualmente, como a ressonância magnética funcional (fMRI), a ressonância magnética morfométrica, ressonância magnética de difusão (dMRI), tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), e tomografia por emissão de positrões (PET) permitem pensar em novos métodos de estudo de endofenótipos no futuro, expandindo ainda mais as possibilidades.(40,41,42)

Neste capítulo, os estudos genéticos sobre as perturbações de ansiedade têm vantagens relativamente aos estudos realizados noutras áreas das perturbações psiquiátricas. Estudos de neuroimagem e de modelos animais trouxeram uma nova perspectiva sobre os circuitos neurológicos e os processos biológicos subjacentes à ansiedade e aos comportamentos de receio/medo.

Com recurso à fMRI demonstrou-se que as perturbações de ansiedade estão associadas a alterações na reactividade do sistema límbico durante o processamento das emoções.

Através de uma metanálise de estudos de fMRI, foi encontrado um aumento da actividade na região da amígdala e da ínsula em indivíduos com perturbações fóbicas e em indivíduos com perturbação de stress pós-traumático, em comparação com indivíduos saudáveis. Foi ainda encontrada uma redução da actividade no córtex cingulado anterior e córtex pré-frontal ventromedial em indivíduos com perturbação de stress pós-traumático.(43)

Estes endofenótipos reflectem o funcionamento biológico subjacente entre uma variação genética e o risco de desenvolver uma perturbação, tornando-se objectos preferenciais de estudos genéticos na área das perturbações de ansiedade. Através de medições da actividade cerebral, tem sido demonstrada alguma evidência de associação entre certos polimorfismos específicos com reacções emocionais relacionadas com a ansiedade. Entre estes polimorfismos, o 5HTTLPR tem sido muito estudado e associado com a actividade da amígdala.(44) A associação entre o alelo curto desta variação e o aumento da reactividade da amígdala em resposta a estímulos emocionais tem sido reproduzida em vários

estudos.(45) Foi observada uma menor conectividade entre a amígdala e o córtex cingulado anterior nos portadores do alelo curto desta variante, sugerindo que esta possa aumentar comportamentos como o medo, ao reduzir o efeito inibitório do córtex sobre a resposta da amígdala ao *stress*.(46)

O neuroticismo e a baixa extroversão são considerados como sendo característicos dos indivíduos com perfil ansioso. Nesse sentido, estes traços têm sido bastante estudados tendo em conta a sua prevalência entre as perturbações de ansiedade, sendo considerados por alguns autores como sendo factores de risco para o desenvolvimento destas perturbações bem como das perturbações do humor. Foram investigados polimorfismo no gene da catecol-O-metil-transferase (COMT), especialmente o polimorfismo val158met, e a sua relação com a variação na expressão destes traços, nomeadamente o aumento do traço de neuroticismo e a diminuição do traço de extroversão. Foi encontrado algum grau de associação com os SNP's val158met e rs737865, e os haplótipos estudados mostraram uma influência modesta nos traços de extroversão e em menor escala nos traços de neuroticismo. Estas observações, com recurso aos haplótipos, sugerem de alguma forma, que as influências sobre a extroversão e, em menor medida, o neuroticismo, encontram-se em *loci* que se podem localizar entre rs737865 e val158met ou em outra localização no gene COMT, ou em genes próximos em desequilíbrio de ligação com estes *loci*. Começa a surgir alguma evidência que outros *loci* no gene da COMT ou nas suas imediações poderão estar envolvidos na susceptibilidade para as perturbações de ansiedade, em particular a perturbação de pânico.(47,48) Outras descobertas importantes para a compreensão genética das perturbações de ansiedade estão relacionadas com os genes da fosfodiesterase, em particular o PDE4D, possivelmente envolvido na susceptibilidade para o neuroticismo.(49,50)

A importância dos modelos animais

Uma área que tem tido um forte impacto no estudo do envolvimento genético nas perturbações de ansiedade é a dos estudos em modelos animais. Enquanto os estudos humanos permitiram estabelecer as bases genéticas para perturbações de ansiedade e de outras perturbações psiquiátricas, os investigadores voltaram-se para os modelos animais na tentativa de aprofundar e clarificar os determinantes genéticos para estas perturbações. Estes modelos têm sido utilizados para caracterizar melhor as bases biológicas do medo e outros traços, uma vez que certos traços relacionados com a ansiedade parecem conservar-se ao longo da evolução das espécies. Tal como nos humanos, os animais respondem a situações de ameaça, com respostas autonómicas características e com comportamentos defensivos. É nesta homologia fisiológica e dos circuitos que existe entre as espécies, que os estudos em modelos animais assentam. Os parâmetros fisiológicos e comportamentais podem ser medidos recorrendo a drogas de efeito ansiolítico ou ansiogénico.(51)

A introdução ou a remoção de um determinado gene no genoma de um animal, tem sido uma das abordagens utilizadas na identificação dos genes da ansiedade, uma vez que possibilita observar o efeito desse gene específico no desenvolvimento dos comportamentos ansiosos.(52) Por exemplo, o receptor da serotonina 1A tem sido implicado na mediação serotoninérgica da ansiedade bem como no tratamento das perturbações de ansiedade. Nos ratos em que este receptor foi removido, observou-se um aumento na intensidade dos comportamentos relacionados com a ansiedade. Foi também demonstrada a importância do momento em que se verifica a expressão do gene, sendo que, quando esta se dá durante o período pós-natal determina um comportamento do tipo ansioso na vida adulta.(53) Desta forma, estes estudos permitem obter uma perspectiva do ponto de vista do desenvolvimento, acerca das perturbações de ansiedade.(51)

Através dos genes pesquisados em estudos de modelos animais, é possível delinear novas estratégias com novos genes candidatos para o desenvolvimento das perturbações de ansiedade em humanos. A partir de genes identificados em ratos murinos foi possível

pesquisar os genes ortólogos no ser humano, o que possibilitou a associação entre perturbação de ansiedade generalizada e os genes PTGDS, DYNLL2 e EPB41L4A.(54)

Por outro lado, a partir dos hipotéticos genes humanos é possível trabalhar em modelos animais experimentais, caracterizando melhor o funcionamento dos alelos de risco.

Investigações incidindo sobre o gene do factor neurotrófico do cérebro (BDNF) parecem indicar que o polimorfismo Val66Met esteja associado a fenótipos neuropsiquiátricos relacionados com perturbações de ansiedade, tendo sido demonstrado que ratos modificados no sentido de expressar o alelo humano Met, evidenciam comportamentos relacionados com ansiedade e mostram resistência ao tratamento com os SSRI's.(55)

Primatas constituem modelos úteis para estudar os mecanismos subjacentes ao comportamento humano. Em particular, os modelos de temperamento ansioso têm constituído oportunidades para examinar os efeitos genéticos e a interacção entre gene e ambiente no desenvolvimento da ansiedade. O temperamento ansioso (inibição comportamental em humanos) é hereditário nos macacos *rhesus* e está associado a uma hiper-reactividade dos circuitos do sistema límbico, já observados no comportamento ansioso humano.(56,57)

Macacos portadores do alelo curto do 5HTTLPR *rhesus* evidenciam níveis de ansiedade aumentados e respostas hormonais ao stress alteradas. Este alelo é também responsável por uma maior vulnerabilidade a experiências adversas em período precoce.(58)

Estudos pré-clínicos em ratos sugerem que, a exposição à adversidade num período precoce do desenvolvimento pode exercer efeitos duradouros sobre as respostas ao stress, possivelmente através de mecanismos epigenéticos.(59)

Os genes da ansiedade em ratos foram também estudados em humanos no sentido de melhor compreender qual o seu efeito nos traços biológicos e comportamentais, tendo particular atenção para o perfil de temperamento de inibição comportamental para o desconhecido. A inibição comportamental tem sido bem estudada em modelos animais, incluindo roedores e macacos. Tal como as crianças com inibição comportamental, os ratos com medo exibem inibição do comportamento e um aumento da resposta autónoma em relação a situações não familiares ou a ambientes ameaçadores. O temperamento ansioso e

inibição comportamental parecem ser altamente hereditários em roedores e primatas, da mesma forma como acontece com os humanos.(60,61)

Através de mapeamento posicional foi identificado o gene *Rgs2*, que codifica um regulador da sinalização da proteína-G e que acelera a desactivação das proteínas-G, que são segundos mensageiros para neurotransmissores incluindo a norepinefrina e serotonina. Este contribui para o desenvolvimento em ratos, de fenótipos de temperamento ansioso semelhantes à inibição comportamental.(62) Foi observada uma associação entre variantes do ortólogo humano (*RGS2*) e inibição comportamental em crianças que foram submetidas a avaliações laboratoriais do seu temperamento. Um haplótipo de SNPs em particular confere a essas crianças uma probabilidade três vezes maior de ter um temperamento inibido. O gene está associado a outros endofenótipos cerebrais comuns ao temperamento ansioso e às perturbações de ansiedade como o aumento da resposta da amígdala e da ínsula a estímulos emocionais, evidenciados através de estudos com ressonância magnética funcional. Estudos sugerem que variantes relacionadas com a redução da expressão do *RGS2* contribuem para o aumento da reactividade de sistema límbico, modulando o temperamento ansioso e a ansiedade social.(60)

O fenótipo de inibição comportamental consiste numa tendência para o indivíduo ser cauteloso e contido em situações de novidade. Sendo observável em laboratório a partir dos 14 meses de idade, torna-o útil para a investigação das bases genéticas da ansiedade.(63) A inibição comportamental poderá ser um factor de risco, identificável precocemente, para o desenvolvimento das perturbações de ansiedade durante a infância e na vida adulta. A utilização de algumas questões de rastreio simples, combinadas com as observações específicas durante visitas de rotina a um médico de cuidados primários ou pediatra, poderiam ser particularmente úteis para detectar a presença de inibição comportamental, e portanto, identificar as pessoas que têm risco aumentado de desenvolver perturbações de ansiedade e que poderiam beneficiar de intervenções como medida preventiva.(64,65) Estudos demonstraram que, adultos classificados como tendo inibição comportamental durante infância, mostram padrões distintos da actividade da amígdala para estímulos

emocionais e de novidade, observáveis através de fMRI, sendo estes padrões comuns com aqueles encontrados em pacientes ansiosos.(66)

Alguns estudos têm sugerido possíveis associações entre o SNP rs4606 do gene RGS2 e a perturbação de pânico, perturbação de stress pós-traumático, e perturbação de ansiedade generalizada, no entanto, o papel do RGS2 no desenvolvimento das perturbações de ansiedade é ainda incerto.(67,68,69)

Os modelos genéticos animais constituem uma ferramenta única e abrangente para o estudo da etiologia, da neurobiologia e, em última instância, da terapêutica das perturbações de ansiedade.(70,71)

A introdução de genes recombinantes em neurónios está a tornar-se numa estratégia cada vez mais importante para compreender os mecanismos moleculares da função cerebral e como esses mecanismos se alteram nas perturbações que afectam o cérebro. Aproveitando a capacidade natural que os vírus possuem de inserir material genético nas células, têm sido realizados estudos com vectores víricos, em especial do HSV-1, que são alterados no sentido de incluir um determinado gene em estudo que irá incorporar o genoma de uma célula, por exemplo um neurónio, modificando uma função. Enquanto os vectores víricos demonstram a sua utilidade como ferramenta de estudo das funções cerebrais, os avanços na tecnologia de transferência de genes têm alimentado a esperança de que a terapia genética do sistema nervoso central e a introdução de genes no cérebro para melhorar doenças neuropsiquiátricas, estejam mais próximos da realidade.(72)

Conclusão

Da análise dos estudos familiares e de gémeos, é possível depreender que todas as principais perturbações de ansiedade descritas no DSM-IV ou no CID10 são de carácter familiar e hereditário. As categorias clínicas de diagnóstico descritas nestas classificações baseiam-se em características fenotípicas que são a tradução da expressão de um genótipo, ou pelo menos essas características estão sob influência da expressão dos genes, contudo os limites destas doenças não são bem definidos. Estas perturbações co-agregam-se em famílias e estão geneticamente correlacionadas, fazendo pressupor que os factores de risco genético e ambiental para os subtipos dessas perturbações são partilhados o que lança um desafio no sentido de definir fenótipos mais precisos para os estudos genéticos. A definição de endofenótipos ou fenótipos intermédios poderá constituir a uma ferramenta fundamental para deslindar os genes envolvidos nas perturbações de ansiedade.

Tal como aparentemente sucede com outras perturbações psiquiátricas e outras patologias médicas, as perturbações de ansiedade são geneticamente complexas, com uma contribuição de múltiplos genes de efeito modesto, em que a expressão fenotípica resulta de interações entre os vários genes e entre os genes e o ambiente. Os estudos de genética molecular, como os estudos de ligação e os estudos de associação, têm apontado vários genes específicos, mas poucos resultados obtiveram poder estatístico ou foram replicados. Isto prende-se com o facto de apenas um conjunto limitado de genes terem sido examinados e por outro lado, com o facto de serem necessários estudos com amostras maiores com poder suficiente para detectar os genes de susceptibilidade.

Investigações em outras áreas de doenças complexas sugerem que os estudos de associação genética deverão incluir amostras muito maiores do que aquelas que têm sido examinadas e a formação de redes de colaboração extensiva como os consórcios de investigação.

Os progressos no sequenciamento de ADN tornarão seguramente mais fáceis os estudos de variantes raras de maior efeito. Estudos moleculares sobre a biologia do genoma começam

a desvendar os mecanismos de modificação epigenética do ADN e das proteínas associadas bem como os seus efeitos sobre a expressão dos genes. A isto poderá estar subjacente a influência ambiental sobre o risco de doença. Existe uma forte probabilidade de que os factores ambientais interajam com factores de risco genéticos para conferir vulnerabilidade para as perturbações de ansiedade. O papel dos efeitos epigenéticos sobre a ansiedade humana, qual a importância das exposições ambientais e sua influência no desenvolvimento, é uma área importante a investigar. Contudo, medir com precisão as variáveis ambientais relevantes será uma tarefa muito complexa.

Os conhecimentos obtidos na área da genética e neurobiologia da ansiedade a partir de modelos animais, de neuroimagem e de estudos moleculares, têm revelado perspectivas desconhecidas e deverão constituir a base para estudos genéticos de novos *loci* envolvidos nestas perturbações.

O que há a descobrir é seguramente mais do que foi descoberto, mas a velocidade a que se dão as descobertas é crescente, abrindo perspectivas para o desenvolvimento de novos meios de diagnóstico, tratamento e prevenção para as perturbações de ansiedade.

Referências:

1. Gordon AJ, Hen R. Genetic approaches to the study of anxiety. *Annu Rev Neurosci* 2004;27:193–222.
2. Nugent NR, Weissman M, Fyer A, Koenen KC. Understanding the causes of anxiety- Current status of research in the genetics of anxiety disorders. In Simpson HB, Neria Y, Lewis-Fernandez R, Schneider F, editors. *Anxiety Disorders: Theory, Research and Clinical Perspectives*. Cambridge Medicine; 2010: p139-55.
3. Merikangas KR, Pine D. 2002. Genetic and other vulnerability factors for anxiety and stress disorders. In Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C, editors. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins; 2002: p867–82.
4. Hettema JM, Neale MC, Kendler KS. A review and metaanalysis of the genetic epidemiology of anxiety disorders. *Am J Psychiatry* 2001;158:1568–78.
5. Goldberg J, True WR, Eisen SA, Henderson WG. A Twin Study of the Effects of the Vietnam War on Posttraumatic Stress Disorder. *JAMA*. 1990;263:1227-32.
6. True WR, Rice J, Eisen SA, Heath AC, Goldberg J, Lyons MJ, Nowak J. A twin study of genetic and environmental contributions to liability for posttraumatic stress symptoms. *Arch Gen Psychiatry* 1993;50:257-64.
7. Hettema JM, Prescott CA, Kendler KS. A population-based twin study of generalized anxiety disorder in men and women. *J Nerv Ment Dis* 2001;189:413-20.
8. Kendler KS. Psychiatric Genetics: A Methodologic Critique. *Am J Psychiatry* 2005;162:3-11.
9. Nyhan WL. Lesch-Nyhan Disease. *J Hist Neurosci. Basic and Clinical Perspectives* 2005;14:1–10.
10. Terracciano A, Chiurazzi P, Neri G. Fragile X Syndrome. *Am J Med Genet Suppl* 2005;137C:32–7.

11. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH, Guttmacher AE, Kong A, Kruglyak L, Mardis E, Rotimi CN, Slatkin M, Valle D, Whittemore AS, Boehnke M, Clark AG, Eichler EE, Gibson G, Haines JL, Mackay TFC, McCarroll SA, Visscher PM. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009;461:747–53.
12. Eichler EE, Flint J, Gibson G, Kong A, Leal SM, Moore JH, Nadeau JH. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nat Rev Genet*. 2010;11:446-50.
13. Inoue K, Lupski JR. Genetics and genomics of behavioral and psychiatric disorders. *Curr Opin Genet Dev*. 2003;13:303-9.
14. Dawn, TM, Barrett, JH. Genetic linkage studies. *Lancet*. 2005;366:1036-44.
15. Fyer AJ, Hamilton SP, Durner M, Haghighi F, Heiman GA, Costa R, Evgrafov O, Adams P, de Leon AB, Taveras N, Klein NF, Hodge SE, Weissman MM, Knowles JA. A Third-Pass Genome Scan in Panic Disorder: Evidence for Multiple Susceptibility Loci. *Biol Psychiatry*. 2006;60:388–01.
16. Knowles JA, Fyer AJ, Vieland VJ, Weissman MM, Hodge SE, Heiman GA, Haghighi F, Jesus GM, Rassnick H, Preud'homme-Rivelli X, Austin T, Cunjak J, Mick S, Fine LD, Woodley KA, Das K, Maier W, Adams PB, Freimer NB, Klein DF, Gilliam TC. Results of a Genome-Wide Genetic Screen for Panic Disorder. *Am J Med Genet* 1998;81:139-47.
17. Gelernter J, Bonvicini K, Page G, Woods SW, Goddard AW, Kruger S, Pauls DL, Goodson S. Linkage Genome Scan for Loci Predisposing to Panic Disorder or Agoraphobia. *Am J Med Genet*. 2001;105:548-57.
18. Gelernter J, Page GP, Stein MB, Woods SW. Genome-Wide Linkage Scan for Loci Predisposing to Social Phobia: Evidence for a Chromosome 16 Risk Locus. *Am J Psychiatry* 2004;161:59–66.

19. Shugart YY, Samuels J, Willour VL, Grados MA, Greenberg BD, Knowles JA, McCracken JT, Rauch SL, Murphy DL, Wang Y, Pinto A, Fyer AJ, Piacentini J, Pauls DL, Cullen B, Page J, Rasmussen SA, Bienvenu OJ, Hoehn-Saric J, Valle D, Liang KY, Riddle MA, Nestadt G. Genomewide linkage scan for obsessive-compulsive disorder: evidence for susceptibility loci on chromosomes 3q, 7p, 1q, 15q, and 6q. *Mol Psychiatry*. 2006;11:763–70.
20. Heather J Cordell, David G Clayton. Genetic Epidemiology 3: Genetic association studies. *Lancet* 2005;366:1121–31.
21. Chiara M. Mazzanti, PhD; Jaakko Lappalainen, MD, PhD; Jeffrey C. Long, PhD; Dietmar Bengel, MD; Hannu Naukkarinen, MD; Monica Eggert, MD; Matti Virkkunen, MD; Markku Linnoila, MD, PhD†; David Goldman, MD. Role of the Serotonin Transporter Promoter. Polymorphism in Anxiety-Related Traits. *Arch Gen Psychiatry* 1998;55:936-40.
22. Verweij KJ, Zietsch BP, Medland SE, Gordon SD, Benjamin B, Nyholt DR, McEvoy BP, Sullivan PF, Heath AC, Madden PA, Henders AK, Montgomery GW, Martin NG, Wray NR. A genome-wide association study of Cloninger's temperament scales: Implications for the evolutionary genetics of personality. *Biol Psychol*. 2010;85:306–17.
23. Lesch K-P, Bengel D, Heils A, et al. Association of anxiety related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996;274:1527–31.
24. Sen S, Burmeister M, Ghosh D. Meta-Analysis of the Association Between a Serotonin Transporter Promoter Polymorphism (5-HTTLPR) and Anxiety-Related Personality Traits. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2004;127B:85–9.
25. Wray NR, James MR, Gordon SD, Dumenil T, Ryan L, Coventry WL, Statham DJ, Pergadia ML, Madden PAF, Heath AC, Montgomery GW, Martin NG. Accurate, Large-Scale Genotyping of 5HTTLPR and Flanking Single Nucleotide Polymorphisms in an

- Association Study of Depression, Anxiety, and Personality Measures. *Biol Psychiatry* 2009;66:468–76.
26. Binder EB, Bradley RG, Liu W, et al. Association of FKBP5 polymorphisms and childhood abuse with risk of posttraumatic stress disorder symptoms in adults. *J Am Med Assoc* 2008;299:1291–305.
27. Hariri AR, Lewis DA. Genetics and the Future of Clinical Psychiatry. *Am J Psychiatry* 2006;163:1676-8.
28. Manolio TA. Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease. *N Engl J Med* 2010;363:166-76.
29. Manolio TA, Brooks LD, Collins FS: A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest* 2008;118:1590–605.
30. Altshuler D, Daly MJ, Lander ES. Genetic mapping in human disease. *Science* 2008;322:881–8.
31. Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee. Genomewide Association Studies: History, Rationale, and Prospects for Psychiatric Disorders. *Am J Psychiatry* 2009;166:540-56.
32. Sutrala SR, Norton N, Williams NM, Buckland PR. Gene Copy Number Variation in Schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008;147:606–11.
33. Levinson DF, Duan J, Oh S, Wang K, Sanders AR, Shi J, Zhang N, Mowry BJ, Olincy A, Amin F, Cloninger CR, Silverman JM, Buccola NG, Byerley WF, Black DW, Kendler KS, Freedman R, Dudbridge F, Pe'er I, Hakonarson H, Bergen SE, Fanous AH, Holmans PA, Gejman PV. Copy Number Variants in Schizophrenia: Confirmation of Five Previous Findings and New Evidence for 3q29 Microdeletions and VIPR2 Duplications. *Am J Psychiatry* 2011; 168:302–16.
34. Otowa T, Yoshida E, Sugaya N, et al. Genome-wide association study of panic disorder in the Japanese population. *J Hum Genet* 2009;54:122–6.

35. Saus E, Brunet A, Armengol L, Alonso P, Crespo JM, Fernández-Aranda F, Guitart M, Martín-Santos R, Menchón JM, Navinés R, Soria V, Torrens M, Urretavizcaya M, Vallès V, Gratacòs M, Estivill X. Comprehensive copy number variant (CNV) analysis of neuronal pathways genes in psychiatric disorders identifies rare variants within patients. *J Psychiatr Res* 2010;44:971-8.
36. Weedon MN, Frayling TM. Reaching new heights: insights into the genetics of human stature. *Trends Genet* 2008;24:595–03.
37. Gottesman II, Gould TD. The Endophenotype Concept in Psychiatry: Etymology and Strategic Intentions. *Am J Psychiatry* 2003;160:636–45.
38. Hall MH, Smoller JW. A New Role for Endophenotypes in the GWAS Era: Functional Characterization of Risk Variants. *Harv Rev Psychiatry* 2010;18:67–74.
39. Leboyer M, Bellivier F, Nosten-Bertrand M, Jouvent R, Pauls D, Mallet J. Psychiatric genetics: search for phenotypes. *Trends Neurosci* 1998;21:102–5.
40. Callicott JH, Weinberger DR. Brain imaging as an approach to phenotype characterization for genetic studies of schizophrenia. *Methods Mol Med* 2003;77:227–47.
41. Diwadkar VA, Keshavan MS: Newer techniques in magnetic resonance imaging and their potential for neuropsychiatric research. *J Psychosom Res* 2002;53:677–85.
42. Martinez D, Broft A, Laruelle M. Imaging neurochemical endophenotypes: promises and pitfalls. *Pharmacogenomics* 2001;2:223–37.
43. Etkin A, Wager TD. Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. *Am J Psychiatry* 2007;164:1476–88.
44. Hariri AR, Mattay VS, Tessitore A, et al. Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science* 2002;297:400–3.

45. Hariri AR, Weinberger DR. Functional neuroimaging of genetic variation in serotonergic neurotransmission. *Genes Brain Behav* 2003;2:341–9.
46. Munafo MR, Brown SM, Hariri AR. Serotonin transporter (5-HTTLPR) genotype and amygdala activation: a metaanalysis. *Biol Psychiatry* 2008;63:852–7.
47. Stein MB, Fallin MD, Schork NJ, Gelernter J. COMT Polymorphisms and Anxiety-Related Personality Traits. *Neuropsychopharmacology* 2005;30:2092–102.
48. Hettema JM, An SS, Bukszar J, van den Oord EJCG, Neale MC, Kendler KS, Chen X. Catechol-O-Methyltransferase Contributes to Genetic Susceptibility Shared Among Anxiety Spectrum Phenotypes. *Biol Psychiatry* 2008;64:302–10.
49. Shifman S, Bhomra A, Smiley S, Wray NR, James MR, Martin NG, Hettema JM, An SS, Neale MC, van den Oord EJ, Kendler KS, Chen X, Boomsma DI, Middeldorp CM, Hottenga JJ, Slagboom PE, Flint J. A whole genome association study of neuroticism using DNA pooling. *Mol Psychiatry* 2008;13:302–12.
50. Terracciano A, Sanna S, Uda M, Deiana B, Usala G, Busonero F, Maschio A, Scally M, Patriciu N, Chen W-M, Distel MA, Slagboom EP, Boomsma DI, Villafuerte S, Siliwerska E, Burmeister M, Amin N, Janssens ACJW, van Duijn CM, Schlessinger D, Abecasis GR, Costa Jr PT. Genome-wide association scan for five major dimensions of personality. *Mol Psychiatry* 2010;15:647–56.
51. Leonardo ED, Hen R. Genetics of affective and anxiety disorders. *Annu. Rev. Psychol* 2006;57:117–37.
52. Smoller JW, Faraone SV. Genetics of anxiety disorders: complexities and opportunities. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2008;148:85–8.
53. Gross C, Zhuang X, Stark K, et al. Serotonin1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature* 2002;416:396–00.

54. Donner J, Pirkola S, Silander K, et al. An association analysis of murine anxiety genes in humans implicates novel candidate genes for anxiety disorders. *Biol Psychiatry* 2008;64:672–80.
55. Chen ZY, Jing D, Bath KG, et al. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science* 2006;314:140–3.
56. Fox AS, Shelton SE, Oakes TR, Davidson RJ, Kalin NH. Trait-like brain activity during adolescence predicts anxious temperament in primates. *PLoS ONE* 2008;3:e2570.
57. Rogers J, Shelton SE, ShelledyW, Garcia R, Kalin NH. Genetic influences on behavioral inhibition and anxiety in juvenile rhesus macaques. *Genes Brain Behav* 2008;7:463-9.
58. McCormack K, Newman TK, Higley JD, Maestriperi D, Sanchez MM. Serotonin transporter gene variation, infant abuse, and responsiveness to stress in rhesus macaque mothers and infants. *Horm Behav* 2009;55:538-47.
59. Meaney MJ, Szyf M, Seckl JR. Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function and health. *Trends Mol Med* 2007;13:269–277.
60. Smoller JW, Paulus MP, Fagerness JA, et al. Influence of RGS2 on anxiety-related temperament, personality, and brain function. *Arch Gen Psychiatry* 2008;65:298–08.
61. Williamson DE, Coleman K, Bacanu SA, et al. Heritability of fearful-anxious endophenotypes in infant rhesus macaques: a preliminary report. *Biol Psychiatry* 2003;53:284–91.
62. Yalcin B, Willis-Owen SA, Fullerton J, et al. Genetic dissection of a behavioral quantitative trait locus shows that Rgs2 modulates anxiety in mice. *Nat Genet* 2004;36:1197–202.
63. Kagan J, Reznick J, Clarke C, Snidman N, Garcia-Coll C. Behavioral inhibition to the unfamiliar. *Child Dev* 1984;55:2212–25.

64. M Svihra, MA Katzman. Behavioural inhibition: A predictor of anxiety. *Paediatr Child Health* 2004;9:547-50.
65. Muris P, van Brakel A, Arntz A, Schouten E. Behavioral Inhibition as a Risk Factor for the Development of Childhood Anxiety Disorders: A Longitudinal Study. *J Child Fam Stud*. 2011;20:157–70.
66. Perez-Edgar K, Roberson-Nay R, Hardin MG, et al. Attention alters neural responses to evocative faces in behaviourally inhibited adolescents. *Neuroimage* 2007;35:1538–46.
67. Leygraf A, Hohoff C, Freitag C, et al. Rgs 2 gene polymorphisms as modulators of anxiety in humans? *J Neural Transm* 2006;113:1921–5.
68. Amstadter AB, Koenen KC, Ruggiero KJ, et al. Variant in RGS2 moderates posttraumatic stress symptoms following potentially traumatic event exposure. *J Anxiety Disord* 2009;23:369–73.
69. Koenen KC, Amstadter AB, Ruggiero KJ, et al. RGS2 and generalized anxiety disorder in an epidemiologic sample of hurricane-exposed adults. *Depress Anxiety* 2009;26:309–15.
70. Jacobson LH, Cryan JF. Genetic approaches to modeling anxiety in animals. *Curr Top Behav Neurosci* 2010;2:161-01.
71. Jerusalinsky D, Baez MV, Epstein AL. Herpes simplex virus type 1-based amplicon vectors for fundamental research in neurosciences and gene therapy of neurological diseases. *J. Physiol* 2011;[Epub ahead of print].
72. Neve RL, Neve KA, Nestler EJ, Carlezon Jr WA. Use of herpes virus amplicon vectors to study brain disorders. *BioTechniques* 2005;39:381-91.

Anexos:

Instruções aos autores e normas de publicação da revista:

Arquivos de Medicina

Instruções aos Autores

Estas instruções seguem os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (disponível em URL: www.icmje.org).

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam investigação original nas diferentes áreas da medicina, favorecendo investigação de qualidade, particularmente a que descreva a realidade nacional.

Os manuscritos são avaliados inicialmente por membros do corpo editorial e a publicação daqueles que forem considerados adequados fica dependente do parecer técnico de pelo menos dois revisores externos. A revisão é feita anonimamente, podendo os revisores propor, por escrito, alterações de conteúdo ou de forma ao(s) autor(es), condicionando a publicação do artigo à sua efectivação.

Todos os artigos solicitados serão submetidos a avaliação externa e seguirão o mesmo processo editorial dos artigos de investigação original. Apesar dos editores e dos revisores desenvolverem os esforços necessários para assegurar a qualidade técnica e científica dos manuscritos publicados, a responsabilidade final do conteúdo das publicações é dos autores.

Todos os artigos publicados passam a ser propriedade dos ARQUIVOS DE MEDICINA. Uma vez aceites, os manuscritos não podem ser publicados numa forma semelhante noutros locais, em nenhuma língua, sem o consentimento dos ARQUIVOS DE MEDICINA.

Apenas serão avaliados manuscritos contendo material original que não estejam ainda publicados, na íntegra ou em parte (incluindo tabelas e figuras), e que não estejam a ser submetidos para publicação noutros locais. Esta restrição não se aplica a notas de imprensa ou a resumos publicados no âmbito de reuniões científicas. Quando existem publicações semelhantes à que é submetida ou quando existirem dúvidas relativamente ao cumprimento dos critérios acima mencionados estas devem ser anexadas ao manuscrito em submissão.

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

De acordo com uma avaliação efectuada sobre o material apresentado à revista os editores dos ARQUIVOS DE MEDICINA prevêem publicar aproximadamente 30% dos manuscritos submetidos, sendo que cerca de 25% serão provavelmente rejeitados pelos editores no primeiro mês após a recepção sem avaliação externa.

TIPOLOGIA DOS ARTIGOS PUBLICADOS NOS ARQUIVOS DE MEDICINA

Artigos de investigação original

Resultados de investigação original, qualitativa ou quantitativa. O texto deve ser limitado a 2000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 4 tabelas e/ou figuras (total) e até 15 referências.

Todos os artigos de investigação original devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Publicações breves

Resultados preliminares ou achados novos podem ser objecto de publicações breves.

O texto deve ser limitado a 1000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências. As publicações breves devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250

palavras cada. Artigos de revisão Artigos de revisão sobre temas das diferentes áreas da medicina e dirigidos aos profissionais de saúde, particularmente com impacto na sua prática.

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam essencialmente artigos de revisão solicitados pelos editores. Contudo, também serão avaliados artigos de revisão submetidos sem solicitação prévia, preferencialmente revisões quantitativas (Meta-análise).

O texto deve ser limitado a 5000 palavras, excluindo referências e tabelas, e apresentar um máximo de 5 tabelas e/ou figuras (total). As revisões quantitativas devem ser organizadas em introdução, métodos, resultados e discussão.

As revisões devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada, devendo ser estruturados no caso das revisões quantitativas.

Comentários

Comentários, ensaios, análises críticas ou declarações de posição acerca de tópicos de interesse na área da saúde, designadamente políticas de saúde e educação médica.

O texto deve ser limitado a 900 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências. Os comentários não devem apresentar resumos.

Casos clínicos

Os ARQUIVOS DE MEDICINA transcrevem casos publicamente apresentados trimestralmente pelos médicos do Hospital de S. João numa selecção acordada com o corpo editorial da revista. No entanto é bem vinda a descrição de casos clínicos verdadeiramente exemplares, profundamente estudados e discutidos. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

Os casos clínicos devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 120 palavras cada.

Séries de casos

Descrições de séries de casos, tanto numa perspectiva de tratamento estatístico como de reflexão sobre uma experiência particular de diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As séries de casos devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Cartas ao editor

Comentários sucintos a artigos publicados nos ARQUIVOS DE MEDICINA ou relatando de forma muito objectiva os resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem um tratamento mais elaborado.

O texto deve ser limitado a 400 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências. As cartas ao editor não devem apresentar resumos.

Revisões de livros ou software

Revisões críticas de livros, software ou sítios da internet. O texto deve ser limitado a 600 palavras, sem tabelas nem figuras, com um máximo de 3 referências, incluindo a do objecto da revisão. As revisões de livros ou software não devem apresentar resumos.

FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A formatação dos artigos submetidos para publicação nos ARQUIVOS DE MEDICINA deve seguir os "Uniform Require-

ments for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals’.

Todo o manuscrito, incluindo referências, tabelas e legendas de figuras, deve ser redigido a dois espaços, com letra a 11 pontos, e justificado à esquerda.

Aconselha-se a utilização das letras Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, e Symbol para caracteres especiais.

Devem ser numeradas todas as páginas, incluindo a página do título. Devem ser apresentadas margens com 2,5 cm em todo o manuscrito. Devem ser inseridas quebras de página entre cada secção. Não devem ser inseridos cabeçalhos nem rodapés.

Deve ser evitada a utilização não técnica de termos estatísticos como aleatório, normal, significativo, correlação e amostra.

Apenas será efectuada a reprodução de citações, tabelas ou ilustrações de fontes sujeitas a direitos de autor com citação completa da fonte e com autorizações do detentor dos direitos de autor.

Unidades de medida

Devem ser utilizadas as unidades de medida do Sistema Internacional (SI), mas os editores podem solicitar a apresentação de outras unidades não pertencentes ao SI.

Abreviaturas

Devem ser evitados acrónimos e abreviaturas, especialmente no título e nos resumos. Quando for necessária a sua utilização devem ser definidos na primeira vez que são mencionados no texto e também nos resumos e em cada tabela e figura, excepto no caso das unidades de medida.

Nomes de medicamentos

Deve ser utilizada a Designação Comum Internacional (DCI) de fármacos em vez de nomes comerciais de medicamentos. Quando forem utilizadas marcas registadas na investigação, pode ser mencionado o nome do medicamento e o nome do laboratório entre parêntesis.

Página do título

Na primeira página do manuscrito deve constar:

- 1) o título (conciso e descritivo);
- 2) um título abreviado (com um máximo de 40 caracteres, incluindo espaços);
- 3) os nomes dos autores, incluindo o primeiro nome (não incluir graus académicos ou títulos honoríficos);
- 4) a filiação institucional de cada autor no momento em que o trabalho foi realizado;
- 5) o nome e contactos do autor que deverá receber a correspondência, incluindo endereço, telefone, fax e e-mail;
- 6) os agradecimentos, incluindo fontes de financiamento, bolsas de estudo e colaboradores que não cumpram critérios para autoria;
- 7) contagens de palavras separadamente para cada um dos resumos e para o texto principal (não incluindo referências, tabelas ou figuras).

Autoria

Como referido nos “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”, a autoria requer uma contribuição substancial para:

- 1) concepção e desenho do estudo, ou obtenção dos dados, ou análise e interpretação dos dados;
- 2) redacção do manuscrito ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual;
- 3) aprovação final da versão submetida para publicação.

A obtenção de financiamento, a recolha de dados ou a supervisão geral do grupo de trabalho, por si só, não justificam autoria. É necessário especificar na carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho. Esta informação será publicada. Exemplo: José Silva concebeu o estudo e supervisionou todos os

aspectos da sua implementação. António Silva colaborou na concepção do estudo e efectuou a análise dos dados. Manuel Silva efectuou a recolha de dados e colaborou na sua análise. Todos os autores contribuíram para a interpretação dos resultados e revisão dos rascunhos do manuscrito.

Nos manuscritos assinados por mais de 6 autores (3 autores no caso das cartas ao editor), tem que ser explicitada a razão de uma autoria tão alargada.

É necessária a aprovação de todos os autores, por escrito, de quaisquer modificações da autoria do artigo após a sua submissão.

Agradecimentos

Devem ser mencionados na secção de agradecimentos os colaboradores que contribuíram substancialmente para o trabalho mas que não cumpram os critérios para autoria, especificando o seu contributo, bem como as fontes de financiamento, incluindo bolsas de estudo.

Resumos

Os resumos de artigos de investigação original, publicações breves, revisões quantitativas e séries de casos devem ser estruturados (introdução, métodos, resultados e conclusões) e apresentar conteúdo semelhante ao do manuscrito.

Os resumos de manuscritos não estruturados (revisões não quantitativas e casos clínicos) também não devem ser estruturados.

Nos resumos não devem ser utilizadas referências e as abreviaturas devem ser limitadas ao mínimo.

Palavras-chave

Devem ser indicadas até seis palavras-chave, em português e em inglês, nas páginas dos resumos, preferencialmente em concordância com o Medical Subject Headings (MeSH) utilizado no Index Medicus. Nos manuscritos que não apresentam resumos as palavras-chave devem ser apresentadas no final do manuscrito.

Introdução

Deve mencionar os objectivos do trabalho e a justificação para a sua realização.

Nesta secção apenas devem ser efectuadas as referências indispensáveis para justificar os objectivos do estudo.

Métodos

Nesta secção devem descrever-se:

- 1) a amostra em estudo;
- 2) a localização do estudo no tempo e no espaço;
- 3) os métodos de recolha de dados;
- 4) análise dos dados.

As considerações éticas devem ser efectuadas no final desta secção.

Análise dos dados

Os métodos estatísticos devem ser descritos com o detalhe suficiente para que possa ser possível reproduzir os resultados apresentados.

Sempre que possível deve ser quantificada a imprecisão das estimativas apresentadas, designadamente através da apresentação de intervalos de confiança. Deve evitar-se uma utilização excessiva de testes de hipóteses, com o uso de valores de p, que não fornecem informação quantitativa importante.

Deve ser mencionado o software utilizado na análise dos dados.

Considerações éticas e consentimento informado.

Os autores devem assegurar que todas as investigações envolvendo seres humanos foram aprovadas por comissões de ética das instituições em que a investigação tenha sido desenvolvida, de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial (www.wma.net).

Na secção de métodos do manuscrito deve ser mencionada esta aprovação e a obtenção de consentimento informado, quando aplicável.

Resultados

Os resultados devem ser apresentados, no texto, tabelas e figuras, seguindo uma sequência lógica.

Não deve ser fornecida informação em duplicado no texto e nas tabelas ou figuras, bastando descrever as principais observações referidas nas tabelas ou figuras.

Independentemente da limitação do número de figuras propostas para cada tipo de artigo, só devem ser apresentados gráficos quando da sua utilização resultarem claros benefícios para a compreensão dos resultados.

Apresentação de dados numéricos

A precisão numérica utilizada na apresentação dos resultados não deve ser superior à permitida pelos instrumentos de avaliação.

Para variáveis quantitativas as medidas apresentadas não deverão ter mais do que uma casa decimal do que os dados brutos.

As proporções devem ser apresentadas com apenas uma casa decimal e no caso de amostras pequenas não devem ser apresentadas casas decimais.

Os valores de estatísticas teste, como t ou χ^2 , e os coeficientes de correlação devem ser apresentados com um máximo de duas casas decimais.

Os valores de p devem ser apresentados com um ou dois algarismos significativos e nunca na forma de $p=NS$, $p<0,05$ ou $p>0,05$, na medida em que a informação contida no valor de p pode ser importante. Nos casos em que o valor de p é muito pequeno (inferior a 0,0001), pode apresentar-se como $p<0,0001$.

Tabelas e figuras

As tabelas devem surgir após as referências. As figuras devem surgir após as tabelas.

Devem ser mencionadas no texto todas as tabelas e figuras, numeradas (numeração árabe separadamente para tabelas e figuras) de acordo com a ordem em que são discutidas no texto.

Cada tabela ou figura deve ser acompanhada de um título e notas explicativas (ex. definições de abreviaturas) de modo a serem compreendidas e interpretadas sem recurso ao texto do manuscrito. Para as notas explicativas das tabelas ou figuras devem ser utilizados os seguintes símbolos, nesta mesma sequência: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡.

Cada tabela ou figura deve ser apresentada em páginas separadas, juntamente com o título e as notas explicativas.

Nas tabelas devem ser utilizadas apenas linhas horizontais.

As figuras, incluindo gráficos, mapas, ilustrações, fotografias ou outros materiais devem ser criadas em computador ou produzidas profissionalmente.

As figuras devem incluir legendas.

Os símbolos, setas ou letras devem contrastar com o fundo de fotografias ou ilustrações.

A dimensão das figuras é habitualmente reduzida à largura de uma coluna, pelo que as figuras e o texto que as acompanha devem ser facilmente legíveis após redução.

Na primeira submissão do manuscrito não devem ser enviados originais de fotografias, ilustrações ou outros materiais como películas de raios-X. As figuras, criadas em computador ou convertidas em formato electrónico após digitalização devem ser inseridas no ficheiro do manuscrito.

Uma vez que a impressão final será a preto e branco ou em tons de cinzento, os gráficos não deverão ter cores. Gráficos a três dimensões apenas serão aceites em situações excepcionais.

A resolução de imagens a preto e branco deve ser de pelo menos 1200 dpi e a de imagens com tons de cinzento ou a cores deve ser de pelo menos 300 dpi.

As legendas, símbolos, setas ou letras devem ser inseridas no ficheiro da imagem das fotografias ou ilustrações.

Em caso de aceitação do manuscrito, serão solicitadas as figuras

nos formatos mais adequados para a produção da revista.

Discussão

Na discussão não deve ser repetida detalhadamente a informação fornecida na secção dos resultados, mas devem ser discutidas as limitações do estudo, a relação dos resultados obtidos com o observado noutras investigações e devem ser evidenciados os aspectos inovadores do estudo e as conclusões que deles resultam.

É importante que as conclusões estejam de acordo com os objectivos do estudo, mas devem ser evitadas afirmações e conclusões que não sejam completamente apoiadas pelos resultados da investigação em causa.

Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas consecutivamente de acordo com a ordem da sua citação. Os números das referências devem ser apresentados entre parêntesis. Não deve ser utilizado software para numeração automática das referências. Pode ser encontrada nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" uma descrição pormenorizada do formato dos diferentes tipos de referências, de que se acrescentam alguns exemplos:

1. Artigo

• Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increase risk for pancreaticobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

2. Artigo com Organização como Autor

• The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 64:282-4.

3. Artigo publicado em Volume com Suplemento

• Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.

4. Artigo publicado em Número com Suplemento
payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23 (1 Suppl 2):89-97.

5. Livro

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.

6. Livro (Editor(s) como Autor(es))

Norman JJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone;1996.

7. Livro (Organização como Autor e Editor) Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute;1992.

8. Capítulo de Livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press;1995. p. 465-78.

9. Artigo em Formato Electrónico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1 (1): [24 screens]. Disponível em:

URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Devem ser utilizados os nomes abreviados das publicações, de acordo com o adoptado pelo Index Medicus. Uma lista de publicações pode ser obtida em <http://www.nlm.nih.gov>.

Deve ser evitada a citação de resumos e comunicações pessoais. Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais.

Anexos

Material muito extenso para a publicação com o manuscrito, designadamente tabelas muito extensas ou instrumentos de recolha de dados, poderá ser solicitado aos autores para que seja fornecido a pedido dos interessados.

Conflitos de interesse

Os autores de qualquer manuscrito submetido devem revelar no momento da submissão a existência de conflitos de interesse ou declarar a sua inexistência.

Essa informação será mantida confidencial durante a revisão do manuscrito pelos avaliadores externos e não influenciará a decisão editorial mas será publicada se o artigo for aceite.

Autorizações

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores devem ter em sua posse os seguintes documentos que poderão ser solicitados pelo corpo editorial:

- consentimento informado de cada participante;
- consentimento informado de cada indivíduo presente em fotografias, mesmo quando forem efectuadas tentativas de ocultar a respectiva identidade;
- transferência de direitos de autor de imagens ou ilustrações;
- autorizações para utilização de material previamente publicado;
- autorizações dos colaboradores mencionados na secção de agradecimentos.

SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos aos ARQUIVOS DE MEDICINA devem ser preparados de acordo com as recomendações acima indicadas e devem ser acompanhados de uma carta de apresentação.

Carta de apresentação

Deve incluir a seguinte informação:

- 1) Título completo do manuscrito;
- 2) Normes dos autores com especificação do contributo de cada um para o manuscrito;
- 3) Justificação de um número elevado de autores, quando aplicável;
- 4) Tipo de artigo, de acordo com a classificação dos ARQUIVOS DE MEDICINA;
- 5) Fontes de financiamento, incluindo bolsas;
- 6) Revelação de conflitos de interesse ou declaração da sua ausência;
- 7) Declaração de que o manuscrito não foi ainda publicado, na íntegra ou em parte, e que nenhuma versão do manuscrito está a ser avaliada por outra revista;
- 8) Declaração de que todos os autores aprovaram a versão do

manuscrito que está a ser submetida;

9) Assinatura de todos os autores.

É dada preferência à submissão dos manuscritos por e-mail (submit@arquivosdemedicina.org).

O manuscrito e a carta de apresentação devem, neste caso, ser enviados em ficheiros separados em formato word. Deve ser enviada por fax (225074374) uma cópia da carta de apresentação assinada por todos os autores.

Se não for possível efectuar a submissão por e-mail esta pode ser efectuada por correio para o seguinte endereço:

ARQUIVOS DE MEDICINA
Faculdade de Medicina do Porto
Alameda Prof. Hernâni Monteiro
4200 – 319 Porto, Portugal

Os manuscritos devem, então, ser submetidos em triplicado (1 original impresso apenas numa das páginas e 2 cópias com impressão frente e verso), acompanhados da carta de apresentação.

Os manuscritos rejeitados ou o material que os acompanha não serão devolvidos, excepto quando expressamente solicitado no momento da submissão.

CORRECÇÃO DOS MANUSCRITOS

A aceitação dos manuscritos relativamente aos quais forem solicitadas alterações fica condicionada à sua realização.

A versão corrigida do manuscrito deve ser enviada com as alterações sublinhadas para facilitar a sua verificação e deve ser acompanhada duma carta respondendo a cada um dos comentários efectuados.

Os manuscritos só poderão ser considerados aceites após confirmação das alterações solicitadas.

MANUSCRITOS ACEITES

Uma vez comunicada a aceitação dos manuscritos, deve ser enviada a sua versão final em ficheiro de Word®, formatada de acordo com as instruções acima indicadas.

No momento da aceitação os autores serão informados acerca do formato em que devem ser enviadas as figuras.

A revisão das provas deve ser efectuada e aprovada por todos os autores dentro de três dias úteis. Nesta fase apenas se aceitam modificações que decorram da correcção de grialhas.

Deve ser enviada uma declaração de transferência de direitos de autor para os ARQUIVOS DE MEDICINA, assinada por todos os autores, juntamente com as provas corrigidas.